ПАРАЗИТОЛОГИЯ, XI, 6, 1977

УДК 576.895.122 : 595.122 : 576.312.37

ХРОМОСОМНЫЙ АППАРАТ ТРЕМАТОД РОДОВ DIPLOSTOMUM И TYLODELPHYS (STRIGEIDIDA, DIPLOSTOMATIDAE) И ЕГО ТАКСОНОМИЧЕСКАЯ ЗНАЧИМОСТЬ

Л. Н. Романенко, А. А. Шигин

Всесоюзный институт гельминтологии им. К. И. Скрябина
и Лаборатория гельминтологии АН СССР, Москва

Описан хромосомный аппарат трех видов рода *Diplostomum* и одного вида рода *Tylodelphys*. Предпринята попытка использования этого аппарата для таксономических целей. Установлено, что общее число хромосом в диплоидном наборе всех изученных видов трематод одинаково и равно 20. Однако кариотипы изученных видов достаточно четко различаются по размерам и морфологии хромосом.

Изучению хромосомного аппарата для таксономических целей в настоящее время придается большое значение. Нередко особенности этого аппарата приобретают решающее значение для дифференциации морфологически близких видов, в том числе и видов-двойников (Майр, 1968). За последние годы кариологические методы начали успешно внедряться и в практику гельминтологических исследований.

В предлагаемой работе дается анализ хромосомного аппарата трех видов трематод рода *Diplostomum* (Nordmann, 1832) и одного вида рода *Tylodelphys* (Diesing, 1850), относящихся к сем. *Diplostomatidae* (Poirier, 1886) отряда *Strigeidida* (La Rue, 1926). При выборе объектов изучения мы исходили из того, что хромосомный аппарат у представителей отряда *Strigeidida* изучен крайне слабо. Имеется лишь одна работа (Saksena, 1969), в которой описан хромосомный аппарат *Proalarioides tropidonotis* Vidyarthi, 1937 из сем. *Ophiodiplostomatidae* Sudarikov, 1960 и *Gogatea serpentium* (Gogate, 1932) из сем. *Prohemistomatidae* Sudarikov, 1961. Первый из них относится к подотряду *Strigeata* La Rue, 1926, второй — к подотряду *Cyathocotylata* Sudarikov, 1959. У обоих видов число хромосом в диплоидном наборе оказалось равным 16, но по размерным и морфологическим характеристикам хромосом эти виды четко отличаются друг от друга.

Изученные нами трематоды относятся к сем. *Diplostomatidae* подотряда *Strigeata*. До наших исследований хромосомный аппарат у представителей этого семейства никем не изучался. С получением новых данных открылась некоторая возможность оценки таксономической значимости хромосомного аппарата у представителей различных таксонов отряда от вида до подотряда включительно. Кроме того, предполагалось использовать особенности хромосомного аппарата для уточнения систематического положения *D. indistinctum*. Вопрос этот длительное время дискутируется в литературе. Одни авторы считают этот вид самостоятельным (Судариков, 1960; Шигин, 1968, 1973; Yamaguti, 1958); другие включают его в синонимы *D. spathaceum* (Быховская-Павловская, 1953, 1962; Абласов, Иксанов, 1958, и др.). Неопределенность в решении этого вопроса наиболее полно отразилась во взглядах одного из крупнейших специалистов по данной группе трематод Дюбуа. Вначале он признавал этот вид самостоятельным (Dubois, 1938), затем перевел его в синонимы *D. spathaceum* (Dubois, 1953), а еще позднее включил в состав *D. spathaceum* на правах подвида (Dubois, 1970).

МАТЕРИАЛ И МЕТОДЫ

Для исследования были использованы партениты трех видов рода *Diplostomum* (*D. spathaceum* (Rud., 1819), *D. indistinctum* (Guberlet, 1923) и *D. mergi* (Dubois, 1932)) и *Tylodelphys clavata* (Nordmann, 1832). Зараженные моллюски были получены из головного пруда рыбхоза «Сходня» Московской обл. (*D. spathaceum* и *D. indistinctum*) и из водоемов дельты Волги в районе Дамчикского участка Астраханского заповедника (*D. mergi* и *T. clavata*). Видовая принадлежность партенит определялась по морфологическим особенностям церкарий и по выращенным из них метацеркариям.

Препараты хромосом готовили из зародышевых шаров дочерних спороцист по методике Шота (Short, 1957) и Редди и Сабраманьяма (Reddy, Subramanyam, 1973) в модификации Романенко (1974). Для кариограммного анализа отбирали по 10 метафазных пластинок от каждого вида. Измерения хросомом проводили по методам Прокофьевой-Бельговской и Гиндилиса (1965). Измерения хромосом осуществляли по рисункам, так как хромосомы мелкие и их изображения на фотографиях не всегда были четкими. Учитывали следующие параметры хромосом: индекс спирализации, определенный как отношение суммарной длины двух самых маленьких хромосом к длине двух самых крупных хромосом в наборе, выраженный в процентах, — I^s. В этой выборке он составил 18—28% для *T. clavata*, 31—40 у *D. spathaceum* и *D. mergi* и 33—48 у *D. indistinctum*. Определяли абсолютные длины хромосом в микронах — L^a, относительные длины как отношение общей длины каждой хромосомы к сумме длин всего гаплоидного набора в промиллях — L^r; центромерный индекс как отношение длины короткого плеча ко всей длине хромосомы в процентах — I^c. Результаты измерений обработаны статистически. На основании средних значений относительных длин и центромерных индексов построены идиограммы. Классификация хромосом дана по Левану с соавт. (Levan et al., 1964).

РЕЗУЛЬТАТЫ ИССЛЕДОВАНИЙ

D. spathaceum (рис. 1; 2, *2*; табл. 1). Диплоидное число, равное 20, было постоянным во всех наблюдаемых метафазных пластинках. В кариотипе хромосомы можно распределить на 2 группы по их размерам. Первая группа состоит из 4 пар самых крупных хромосом, абсолютная длина которых составляет 1.3—2.0 мкм, относительная — $113.7—186.9^0/_{00}$. По мор-

Таблица 1

Результаты измерений хромосом *D. spathaceum*

№№ пар гомологов	Абсолютная длина, (L^a) мкм ± *m*	Относительная длина, (L^r) ‰ ± *m*	Центромерный индекс, (I^c) % ± *m*
1	2.0±0.18	186.9±5.21	7.2±0.43
2	1.7±0.18	157.5±6.30	9.3±0.49
3	1.4±0.08	127.9±3.30	10.3±0.48
4	1.3±0.08	113.7±4.31	12.3±0.68
5	0.9±0.08	94.5±4.70	20.0±0.49
6	0.8±0.03	70.2±2.40	34.8±4.05
7	0.8±0.04	72.2±3.50	42.2±1.61
8	0.7±0.18	67.4±5.70	43.7±0.79
9	0.6±0.05	54.0±2.80	49.0±0.48
10	0.5±0.05	47.7±3.40	40.2±0.62

фологии хромосомы одинаковые. Значение центромерного индекса у них варьирует от 7.2 до 12.3%, что соответствует телоцентрическому типу хромосом. Вторая группа представлена остальными 6 парами мелких хромосом размером от 0.5 до 0.9. мкм. Среди них 5-я пара акроцентрического типа с I^c=20%, 6-я пара субметацентрического типа с I^c=34.8%. 7—10-я пары имеют метацентрическое строение. Центромерные индексы их находятся в пределах 42.2—49%. Выявление гомологов в этой группе хромосом затруднено из-за их малых размеров.

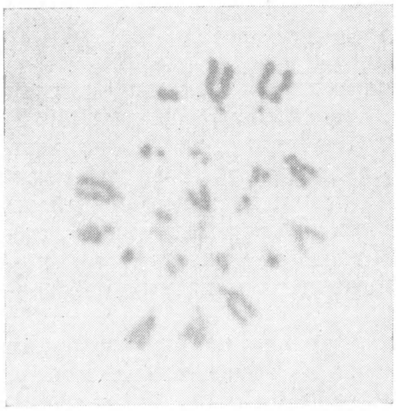

Рис. 1. Метафаза митоза *Diplostomum spathaceum*.

Микрофотография. Оригинал.

D. mergi (рис. 2, *3*; табл. 2). В кариотипе также содержится 20 хромосом. Из них самые крупные 4 пары достигают в длину 1.1—1.5 мкм. По относительной длине они составляют 117.8—160.$0^0/_{00}$ от длины всего гаплоидного набора. Остальные 6 пар достигают в длину 0.5—0.9 мкм. По морфологии первые 5 пар хромосом схожи, классифицируются как телоцентрические с I^c=13.4—15.5%. Следующие 5 пар мелких хромосом являются метацентриками (I^c=36—50%). Большая изменчивость центромерного индекса, как и у предыдущего вида, обусловлена малыми размерами этой группы хромосом и связанной с этим трудностью точного определения положения их центромер.

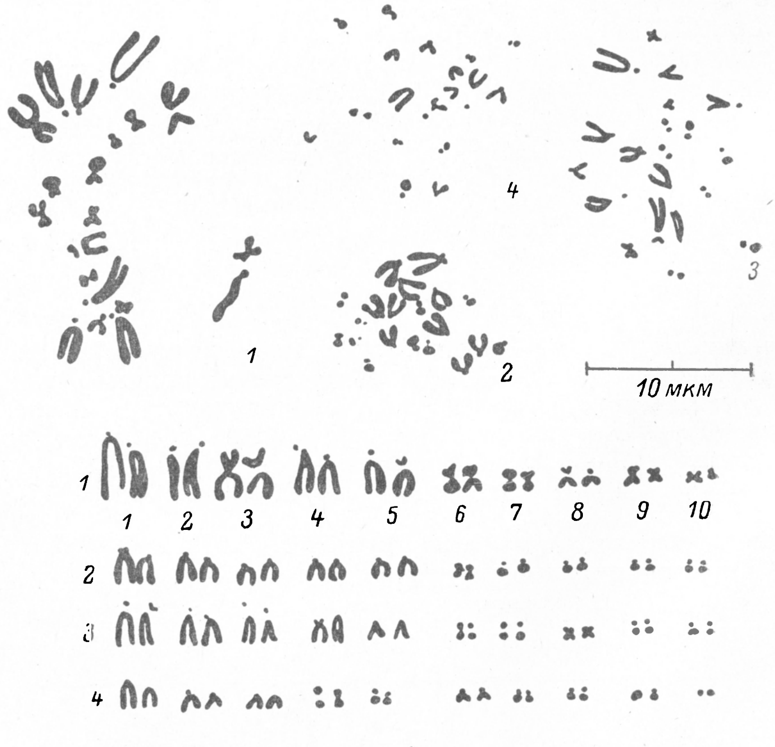

Рис. 2. Хромосомные наборы и кариограммы.

1 — *Diplostomum indistinctum*, *2* — *Diplostomum spathaceum*, *3* — *Diplostomum mergi*, *4* — *Tylodelphys clavata*

D. indistinctum (рис. 2, *1*; 3; табл. 3). В диплоидном наборе 20 хромосом, среди них 4 пары крупных и 6 пар мелких. Размер их значительно

Таблица 2

Результаты измерений хромосом *D. mergi*

№№ пар гомологов	Абсолютная длина, (L^a) мкм ± m	Относительная длина, (L^r) ‰ ± m	Центромерный индекс, (I^c) % ± m
1	1.5±0.19	160.0±3.36	13.9±0.53
2	1.4±0.15	157.5±6.00	15.5±0.59
3	1.3±0.10	141.5±8.53	14.3±0.59
4	1.1±0.16	117.8±4.43	13.4±0.82
5	0.9±0.09	94.4±5.50	13.5±0.55
6	0.9±0.09	87.7±3.43	36.0±1.49
7	0.8±0.08	81.5±3.73	47.1±0.60
8	0.7±0.06	77.7±4.33	43.3±1.59
9	0.6±0.0	70.0±4.26	50.0±0.0
10	0.5±0.02	62.0±4.90	50.0±0.0

Таблица 3

Результаты измерений хромосом *D. indistinctum*

№№ пар гомологов	Абсолютная длина, (L^a) мкм ± m	Относительная длина, (L^r) ‰ ± m	Центромерный индекс, (I^c) % ± m
1	3.8±0.27	162.4±2.71	12.2±0.61
2	3.4±0.34	136.9±6.51	11.9±0.63
3	3.3±0.27	119.3±6.83	40.9±0.71
4	2.7±0.23	116.0±5.03	17.1±1.16
5	2.4±0.23	84.9±7.21	18.9±1.10
6	1.9±0.16	71.2±4.76	44.7±1.14
7	1.7±0.09	66.9±3.28	35.4±1.88
8	1.5±0.15	58.9±3.27	38.4±2.04
9	1.4±0.10	60.3±2.12	42.7±1.01
10	1.3±0.12	54.2±2.23	35.4±1.59

превосходит размеры аналогичных хромосом в кариотипах *D. spathaceum* и *D. mergi*. Самые большие хромосомы достигают 2.4—3.8 мкм, самые мелкие — 1.3—1.9 мкм. Относительные их длины отличаются в меньшей степени. По строению 1-я и 2-я пары являются телоцентрическими с I^c=11.9—12.2%. 3-я пара является маркерной для данного кариотипа: она обладает метацентрическим строением с I^c=40.9%. Следующие две пары телоцентрические (I^c=17.1—18.9%). 6-я, 8-я и 9-я пары — метацентрические (I^c=38.4—44.7%). Хромосомы 7-й и 10-й пар — субметацентрические (I^c=35.4%).

Таблица 4

Результаты измерений хромосом *T. clavata*

№№ пар гомологов	Абсолютная длина, (L^a) мкм ± m	Относительная длина, (L^r) ‰ ± m	Центромерный индекс, (I^c) % ± m
1	1.3±0.06	162.9±5.64	19.2±1.05
2	1.1±0.07	141.8±4.46	12.3±0.60
3	0.9±0.07	142.2±6.57	18.9±0.53
4	0.9±0.03	108.9±2.70	24.2±0.28
5	0.8±0.00	102.2±2.05	42.5±0.72
6	0.8±0.03	111.1±4.84	47.0±0.73
7	0.7±0.03	95.0±5.67	44.7±0.81
8	0.6±0.03	73.2±5.67	40.0±0.00
9	0.4±0.03	45.9±3.74	37.1±0.86
10	0.3±0.07	38.0±3.00	— — —

T. clavata (рис. 2, *4*; табл. 4). В кариотипе 20 хромосом. Расположение их по размерам на идиограмме плавное без выделения отдельных групп. Длина хромосом от 0.3 до 1.3 мкм. 2 пары имеют в длину 1.1—1.3 мкм, 5 пар — 0.7—0.9, 3 — 0.3—0.6 мкм. По морфологии хромосомы различны. 1-я, 3-я и 4-я пары акроцентрического строения с $I^c=18.9$—24.2%. 2-я пара — телоцентрическая ($I^c=12.3\%$), следующие 4 пары — метацентрические ($I^c=$ $=42.5$—47%). 8-я пара дифференцируется как субметацентрическая ($I^c=37.1\%$). У последней самой мелкой пары хромосом положение центромер неясно.

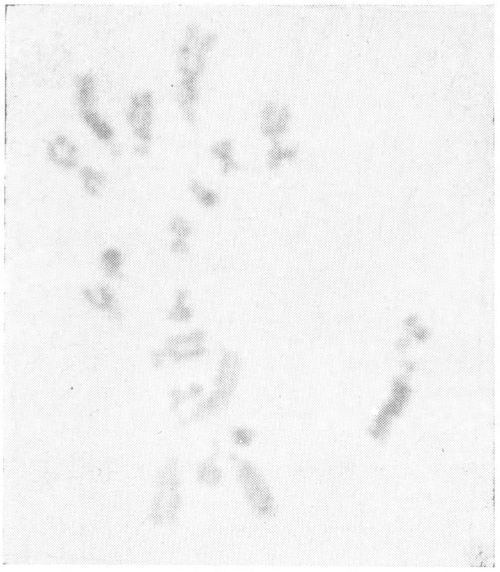

Рис. 3. Метафаза митоза *Diplostomum indistinctum*.

Микрофотография. Оригинал.

ОБСУЖДЕНИЕ РЕЗУЛЬТАТОВ

Проведенное исследование показало, что диплоидный набор хромосом у всех четырех видов трематод сем. *Diplostomatidae* оказался одинаковым, он включает в себя по 20 хромосом. Таким образом, по этому признаку нам не удалось установить различий между представителями этой группы трематод ни на видовом, ни на родовом уровне. Из этого, однако, нельзя делать категорического вывода о том, что число хромосом в кариотипе на этих уровнях не имеет никакой таксономической ценности. Роды *Diplostomum* и *Tylodelphys* крупные, они насчитывают в общей сложности более 35 видов. Хромосомный аппарат их изучается впервые. Поэтому окончательный ответ о таксономической ценности числа хромосом в кариотипе может быть дан только после того, как он будет изучен у значительно большего числа видов, в том числе и у представителей других родов и семейств отряда. Однако уже сейчас очевидно, что кариотипы видов одного рода (виды рода *Diplostomum*), а также видов разных родов одного семейства (роды *Diplostomum* и *Tylodelphys*) могут иметь одинаковый по количеству набор хромосом. Одинаковое число хромосом в кариотипе может быть и у представителей более крупных таксонов, например разных подотрядов (Saksena, 1969). Все это говорит о том, что таксономическая ценность этого признака у отряда *Strigeidida* вряд ли может быть большой.

Значительно большую таксономическую ценность, видимо, имеют морфологические особенности хромосом. Так, несмотря на одинаковое число их, кариотипы всех изученных нами видов трематод различаются довольно четко. Эти различия касаются в основном размеров хромосом и положения центромеры в некоторых из них. По ним можно различать и виды одного рода и виды, относящиеся к разным родам. Так, кариотип *T. clavata* содержит очень мелкие и к тому же сходные по морфологии хромосомы. Этим он существенно отличается от кариотипов всех трех видов рода *Diplostomum*, хромосомы которых более крупные и четко дифференцированы на морфологические группы.

Видовые различия кариотипов у видов одного рода также могут быть довольно существенными, позволяющими различать близкие по морфологии марит виды. В этом отношении особый интерес представляет сравнение кариотипов *D. indistinctum* и *D. spathaceum*. Мариты этих видов настолько близки, что некоторые авторы рассматривают *D. indistinctum* в качестве синонима *D. spathaceum*. Однако эти виды четко различаются по морфологии церкарий и метацеркарий и по некоторым особенностям их биологии (Шигин, 1968, 1974). Хорошо различаются они и по хромосомному аппарату. Так, хромосомы у первого вида значительно крупнее, чем у второго: абсолютная длина их составляет соответственно 1.3—3.8 и 0.5—2.0 мкм. Кроме того, в кариотипе *D. indistinctum* имеется маркерная 3-я пара метацентрических хромосом, не имеющих аналогов в кариотипах двух других видов рода *Diplostomum*. Таким образом, кариотипы *D. indistinctum* и *D. spathaceum* существенно отличаются друг от друга, что может служить еще одним аргументом в пользу видовой самостоятельности каждого из них.

Говоря о таксономической значимости хромосомного аппарата, хотелось бы особо подчеркнуть отсутствие тесной коррелятивной зависимости между морфологией марит и специфическими особенностями хромосомного аппарата. Выше уже отмечалось, что кариотипы *D. spathaceum* и *D. mergi* более близки, чем кариотипы *D. spathaceum* и *D. indistinctum*. В то же время по морфологии марит *D. spathaceum* более близок к *D. indistinctum*, а не к *D. mergi*. Это открывает возможность в отдельных случаях использовать хромосомный аппарат в качестве наиболее надежного критерия для разделения морфологически близких видов трематод одного рода.

Литература

Абласов Н. А., Иксанов К. И. 1958. Фауна трематод рыбоядных птиц Киргизии. В кн.: Работы по гельминтологии (к 80-летию акад. К. И. Скрябина). Изд. АН СССР, М. : 15—22.

Быховская-Павловская И. Е. 1953. Фауна сосальщиков птиц Западной Сибири и ее динамика. Паразитолог. сб. ЗИН АН СССР, 15 : 5—116.

Быховская-Павловская И. Е. 1962. Трематоды птиц фауны СССР (эколого-географический обзор). Изд. АН СССР, М.—Л. : 1—407.

Майр Э. 1968. Зоологический вид и эволюция. Изд. «Мир», М. : 1—597.

Прокофьева-Бельговская А. А., Гиндилис В. М. 1965. Идентификация хромосом человека. Изд. АН СССР, сер. биолог. : 188—200.

Романенко Л. Н. 1974. Изучение хромосомных наборов некоторых видов трематод подотряда Paramphistomatata. В кн.: Матер. Всесоюзн. общ. гельминтолог., 26: 226—239.

Судариков В. Е. 1960. Отряд Strigeidida (La Rue, 1926) Sudarikov, 1959. В кн.: К. И. Скрябин: Трематоды животных и человека. Изд. АН СССР, М., 17 : 157—530.

Шигин А. А. 1968. К познанию жизненного цикла и морфологии церкарии Diplostomum indistinctum (Trematoda: Diplostomatidae). Тр. ГЕЛАН, 19 : 208—217.

Шигин А. А. 1973. Церкария D. mergi Dubois, 1932 и некоторые вопросы таксономии церкарий рода Diplostomum (Trematoda, Diplostomatidae). Проблемы общей и прикладной гельминтологии. Изд. «Наука», М. : 163—169.

Dubois G. 1938. Monographie des Strigeida (Trematoda). Mem. Soc. neuchât. Sci. natur., 6 : 1—535.

Dubois G. 1953. Liste systématique des Strigeidida, complément de la monographie. Mem. Soc. neuchât. Sci. natur., 8 (2) : 1—141.

Dubois G. 1970. Synopsis des Strigeididae et des Diplostomatidae (Trematoda). Soc. Neuchâtel. sci. nat. univ., Neuchâtel (Suisse), 10 (2) : 259—727.

Levan A., Fredgo K., Saudberg A. 1964. Nomenclature for centromere position on chromosomes. Hereditas, 52 : 201—220.

Reddy V., Subramanyam S. 1973. Chromosome studies in the liver fluke F. gigantica Cobbold, 1856. Current Sci., 42 (8) : 288—291.

Saksena I. N. 1969. Chromosomes studies of fifteen species of Indian Digenetic Trematodes. Proc., Nat., Acad. Sci. India. 39b (1—4) : 81—110.

Short R. B. 1957. Chromosomes and sex in Schistosomatium douthitti. Heredity, 48 (1—3) : 2—6.

Yamaguti S. 1958. Systema helminthum, v. 1. The digenetic trematodes of vertebrates. N. Y.—London : 1—979.

CHROMOSOMAL APPARATUS OF TREMATODES OF THE GENERA DIPLOSTOMUM AND TYLODELPHYS (STRIGEIDIDA, DIPLOSTOMATIDAE) AND ITS TAXONOMIC SIGNIFICANCE

L. N. Romanenko, A. A. Shigin

SUMMARY

The chromosomal apparatus of three species of trematodes of *Diplostomum* (*D. spathaceum*, *D. indistinctum*, *D. mergi*) and one species *Tylodelphys* (*T. clavata*) is described. It has been suggested that karyological investigations can be used for taxonomic purposes. The opinion has been expressed that the number of chromosomes in the karyotype of these trematodes plays no taxonomic role. Of great taxonomic significance are the size and morphology of chromosomes. Differences in karyotypes of trematodes belonging to different species and genera were revealed by these characters. The absence of close dependence between morphology of adult and specific peculiarities of karyotypes in species of the same genus enables in some cases the use of chromosomal apparatus as a most reliable criterion for a differentiation of close species.